

JAP

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 06-209757

(43)Date of publication of application : 02.08.1994

---

(51)Int.Cl. C12M 1/00

C12M 3/00

C12P 23/00

/(C12P 23/00

C12R 1:89 )

---

(21)Application number : 05-134979 (71)Applicant : UNIV BEN GURION

(22)Date of filing : 04.06.1993 (72)Inventor : ARAD SHOSHANA MALIS  
COHEN EPHRAIM

---

(30)Priority

Priority number : 92 102189 Priority date : 12.06.1992 Priority country : IL

---

(54) MICROORGANISM GROWTH APPARATUS

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide an outdoor apparatus for producing microorganisms, especially microalgae on an industrial scale.

CONSTITUTION: This microorganism growth apparatus comprises the following combination: (a) many vertically extended transparent flexible cells capable of containing biomasses, respectively; (b) a vertical support means capable of vertically supporting the many cells in parallel to each other in a mutually close state; (c) at least one gas inlet and at least one gas exit making it possible to charge nutrients or a gas through the biomass to ventilate each cell; (d) at least one inlet and/or exit allowing it possible to supply a nutritive solution through the biomass and recover the biomass from each cell, and (e) a common carrying means connected to the exits and used for receiving from the growth apparatus the biomasses recovered from all or a part of the many cells and for carrying the recovered biomasses.

---

#### LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 10.04.1995

[Date of sending the examiner's  
decision of rejection]

[Kind of final disposal of application  
other than the examiner's decision of  
rejection or application converted  
registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 2698308

[Date of registration] 19.09.1997

[Number of appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against  
examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right] 19.09.2002

**\* NOTICES \***

**JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.**

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

---

**CLAIMS**

---

[Claim(s)]

[Claim 1] The following combination: Transparent flexible cel prolonged to many perpendicularly a biomass included;

b) Vertical support means which makes the cel of said large number support perpendicularly in parallel [ make it approach mutually and ];

c) At least one gas inlet and one gas outlet which play a nutrient or other gas through biomass, and make ventilation of each cel possible;

d) At least one inlet port and/or outlet which make it possible to make biomass collect from each cel while making biomass supply a nutrient solution;

e) Microorganism growth equipment containing common conveyance means; made to connect the biomass collected from all or a part of cels of said large number with each of said outlet which carries out reception conveyance from growth equipment.

[Claim 2] It is equipment according to claim 1 with which said vertical supporter material consists of a frame upright which has at least two vertical members and one top-horizontal-discharge member, and said top-horizontal-discharge member enables it to have supported the load of the cel of said large number.

[Claim 3] The cel of said large number is equipment according to claim 2 from

which many cels were made for many cels to hang the connection means which can be connected with the horizontal bracing of a frame upright from this horizontal bracing when it had and connected with said horizontal bracing by this.

[Claim 4] Equipment according to claim 1 whose distance between two adjoining cels is 100mm or less.

[Claim 5] Equipment according to claim 4 each cel was made to connect with a frame upright independently.

[Claim 6] Equipment according to claim 1 two cels which adjoin respectively were made to connect by at least one point.

[Claim 7] Equipment according to claim 4 which all the cels were made to connect and formed the single body.

[Claim 8] It is equipment according to claim 1 which is the magnitude which at least one gas inlet consists of immersion pipes for air, and can permit sufficient air flow rate for the diameter of this immersion pipe to stir the biomass in a cel.

[Claim 9] Equipment [ equipped with a cooling means to make the biomass held in said cel cool when predetermined temperature is exceeded ] according to claim 1.

[Claim 10] Said cooling means is equipment according to claim 9 which consists of a water spray means.

[Claim 11] Said cel is equipment according to claim 1 made from the ingredient which can be welded.

[Claim 12] The cel of said large number is equipment according to claim 7 formed by setting spacing and welding it perpendicularly in the ingredient which can weld a bilayer.

[Claim 13] The ingredient in which said welding is possible is equipment according to claim 11 which is polyethylene.

[Claim 14] Equipment [ equipped with the path which makes between the cels which adjoined connect mutually ] according to claim 1.

[Claim 15] Equipment according to claim 2 whose perimeter die length in the horizontal section of each cel is for 5 to 100cm.

[Claim 16] Equipment according to claim 2 whose height of each cel is for 100 to 250cm.

[Claim 17] Equipment according to claim 1 which the configuration of the pars basilaris ossis occipitalis of each cel was a cone form, and prevented the sediment of biomass while promoting fluidization and stirring of biomass.

[Claim 18] The following processes: Transparent flexible cel prolonged to many perpendicularly preparing-growth equipment which consists of combination of one degree:a biomass included;

b) Vertical support means which makes the cel of said large number support perpendicularly in parallel [ make it approach mutually and ];

c) At least one gas inlet and one gas outlet which play a nutrient or other gas through biomass, and make ventilation of each cel possible;

d) At least one inlet port and/or outlet which make it possible to make biomass collect from each cel while making biomass supply a nutrient solution;

e) A central conveyance means to carry out reception conveyance of the biomass collected from all or a part of cels of said large number from growth equipment;

2) It is filled up with the nutrient solution containing the cell which should be grown up into said cel.;

3) Blow the air of sufficient amount to obtain stirring of efficient biomass, and clearance of the oxygen from this biomass on said nutrient solution.;

4) Supply CO<sub>2</sub> of the amount which is sufficient for promoting growth to biomass.;

5) Collect the biomass grown up periodically, carrying out the recirculation of the solution which settled the solid-state to said cel, while settling the solid-state which removed a part of capacity contained in each cel, and was contained in it.;

6) Supplement said cel with a nutrient solution and/or the matter as occasion demands.;

\*\*\*\*\* , the method of producing the matter from a microorganism.

[Claim 19] The nutrient solution for a supplement of a process (6) is the approach

according to claim 18 at least a part contains the recirculation nutrient solution from a biomass separation process.

[Claim 20] The approach according to claim 18 CO<sub>2</sub> is made to supply with air.

[Claim 21] The approach according to claim 20 CO<sub>2</sub> content in air is about two to three %.

[Claim 22] Said microorganism is the approach according to claim 18 of being minute algae.

[Claim 23] Said minute algae are the approaches according to claim 22 chosen from chlorella EMASONI (*Chlorella emersonii*) and the Dunaliella kind (*Dunaliella* sp.).

[Claim 24] The produced matter is the approach according to claim 22 or 23 of being beta carotene.

[Claim 25] The produced matter is the approach according to claim 22 or 23 of being canthaxanthin (canthaxanthin).

[Claim 26] How to make the matter produce from a microorganism by the approach indicated and illustrated intrinsically.

---

[Translation done.]

**\* NOTICES \***

**JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.**

1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.

3.In the drawings, any words are not translated.

---

**DETAILED DESCRIPTION**

---

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Industrial Application] This invention relates to the growth equipment of a microorganism, especially algae. Furthermore, it is invention concerning the outdoor production equipment of the microorganism in industrial magnitude in a detail.

[0002]

[Background of the Invention] In the case of many to which light exerts useful effectiveness on such a microorganism, growth of the microorganism in the outdoors is carried out. The microorganisms raised outdoors are minute algae, and although reference is made about minute algae for convenience if it lets a description pass, it could usually understand them that it is not what is limited to invention of equipment for this to grow up other kinds including the kind of explanation which does not need the conditions of light for growth. As an example of the microorganism which can be grown up by this invention, they are true fungi, yeast, bacteria, large-sized algae (macroalgae), a plant cell, Nematoda, etc.

[0003]

[Description of the Prior Art] When minute algae have desirable biomass production of a industrial amount, it is usual that you are made to grow up in an outdoor pond, utilizing daylight for growth. Moreover, the attempt [ in / generally / in various equipments / industrial magnitude ] which was indicated by U.S. Pat. No. 2,732,663, No. 3,955,317, No. 4,868,123, etc. and into which minute algae are grown up with technical and the equipment containing the transparence tube in the outdoors in spite of having not resulted in the commercial success is made.

[0004] However, the above-mentioned approach has a serious fault. production in a pond is inefficient ---like -- it is -- light -- through -- being hard -- it is faced with the problem resulting from the evaporation which brings about contamination by things, the intense temperature change among days, and the hostility microorganism, are recording of oxygen, and salt water-ization. Although growth

within a transparent tube or a pipe is proposed, it all the well-known growth approaches not only have the serious fault that it is inefficient-like, but is inapplicable to industrial magnitude especially because of a raise in the cost of underproductivity and equipment.

[0005]

[The technical problem which that of invention tends to solve] it is. The object of this invention is offering the growth equipment of a microorganism, and the growth equipment of minute algae which is the outdoors especially and can acquire high output by low cost comparatively on a scale of industrial.

[0006]

[Means for Solving the Problem] The microorganism growth equipment by this invention is the transparent flexible cel which can include a biomass and which was prolonged vertically [ a large number ].;

b) Vertical support means which makes the cel of said large number support perpendicularly in parallel [ make it approach mutually and ];

c) At least one gas inlet and one gas outlet which play a nutrient or other gas through biomass, and make ventilation of each cel possible;

d) At least one inlet port and/or outlet which make it possible to make biomass collect from each cel while making biomass supply a nutrient solution;

e) It consists of what combined a common conveyance means you were made to connect with each of said outlet to carry out reception conveyance of the biomass collected from all or a part of cels of said large number from growth equipment.

[0007] Thus, since productivity with high growth in a perpendicular direction is shown according to this invention so that it may be mentioned later, a lot of biomass can be grown up also with the equipment which occupies a comparatively narrow location. According to the desirable mode of this invention, a vertical support means consists of a frame upright which has at least two vertical members and one suitable top-horizontal-discharge member to support the weight of the cel of said large number.



[0008] In order to combine the cel of said large number with a frame, the connection means in which the horizontal bracing of a frame upright and connection are possible is prepared for the cel, and thereby, the cel of said large number is hung from there, when it connects with said horizontal bracing.

According to one of the desirable aspects of this invention, the adjoining thing for which two cels are respectively connected in at least one point, and they are all connected mutually is desirable. This can be attained by various approaches. for example, opening is left behind to the weld zone between two adjoining cels so that a mass can be conveyed from one cel to other cels, or An external connection means can be prepared in the end of a cel, and all cels can be connected with a common means of transportation by this. Or by this For example, a cel can be emptied completely selectively coincidence or by turns as directed by the special demand of a system. This makes considerable flexibility permit about operation, and is also other advantages of this invention so that I may be understood.

[0009] As mentioned above, one of the objects of this invention is offering the efficient equipment which produces the biomass of high yield, utilizing comparatively few tooth spaces. This is important. It is because the configuration of equipment is fitted to the amount from Sadao Tokoro of the biomass per square meter, and it moreover should not be less from the minimum value if it is \*\*\*\* thru/or in order to produce biomass in a industrial amount. In production of minute algae, it is admitted for the time being in the fields that growth of the biomass of 25 g/m<sup>2</sup> and a day is the upper limit of industrial production. However, the practical output of growth of the minute algae in Ikenaka does not usually exceed a 2.5-10 g/m<sup>2</sup>/day.

[0010] In the desirable mode of this invention, the distance between two adjoining cels is less than [ 100mm or it ]. As far as transparency of light is concerned, this is important in order to make interference not only the object to which the volume of equipment is made to increase but between the adjoining cels into evasion or min. In summer monthly, the equipment of this invention

makes it possible it not only to make it possible to avoid too much elevated temperature, but to acquire higher more desirable temperature in winter monthly, though the conditions of a wonderful light are utilized.

[0011] Production of the minute algae in the equipment of this invention has without the need for pH control the important advantage of enabling precipitation of the minute algae at the time of recovery. Before settling a frond in the collection machine of a suitable cone configuration with the equipment by the advanced technology as compared with this, for example, it is necessary to control pH in an algae content nutrient solution. If it does not do so, it is because imperfect precipitate arises, or precipitate does not arise at all and biomass is carried away by the nutrient solution from a precipitation field. while collecting the Dunaliella (Dunaliella) kinds which are algae important for biomass production, in order [ for example, ] to obtain precipitation -- pH of biomass -- usually -- about [ of a value / 7.0-7.5 to ] -- it is necessary to make it fall even to pH 5.5 It is the pH same in contrast with this, when growing up the Dunaliella kind with the equipment by this invention, for example, is pH 7.0-7.5 as growth occurs.

Precipitation takes place. This operation that must have been expected is not fully solved, although it is also a part of this invention. Although it does not desire to be limited by any special theory, the artificer etc. thinks that the reason of this operation was made to contrast with the cell density which per volume increased, or the conventional approach, and was produced by the algae made to grow up by this invention by the increment in various matter like beta carotene. which -- an imitation -- this operation makes it possible to make growth equipment circulate through a nutrient solution immediately after precipitation of biomass, without performing any processings and pH accommodation.

[0012] Since a lot of cytolases are not produced, either excluding what kind of mechanical processing processing (for example, centrifuge method), it is not polluted by organic substance like glycerol or beta carotene, therefore a nutrient solution can carry out direct circulation of it. This excels the process of the advanced technology in this contractor in process and economical considerably

so that clearly. It is because it becomes important economically like [ in the case of being based on this invention ] to circulation of a nutrient solution not being so important for when industrial production is taken into consideration when the process of the advanced technology is performed by the laboratory scale.

[0013] While this invention sets like 1 voice and each cel is independently connected with a frame upright, it approaches mutually and these cels are arranged so that a single body may be formed. According to the most desirable mode of this invention, all cels are made to form a single body by connection. As for a cel, consisting of an ingredient which can be welded is desirable. Therefore, the equipment of this invention can be assembled in various modes so that I may be understood by this contractor. For example, many cels approach mutually, are prepared independently and can weld the adjoining cel comrade after that. According to the still more desirable mode of this invention, many cels are vertically formed [ distance ] by placing and welding in the ingredient which can weld a bilayer.

[0014] Moreover, although you may consist of what kind of suitable ingredients as long as it has a mechanical and optical property, it has become clear that polyethylene is a convenient and suitable ingredient with suitable not the place that limiting the ingredient with which a cel is formed means [ person / this invention ] but such cel. It is easy to weld polyethylene and is because the permeability of light is good and comparatively strong also to the wear under actuation. As other suitable ingredients which may be substituted for and used for it, a polyamide, PVC, etc. are mentioned together with polyethylene, for example.

[0015] A separate cel can be made to connect mutually in other modes of this invention by closing biomass and/or a nutrient solution from one cel, if the passage and circulation to other cels are possible, for example, using connection means, such as a tube and opening. This is convenient for the application in the case where he wants to make the conditions within each cel homogenized as much as possible.

[0016] Although it will be understood by this contractor, even if the width of face of each cel is too small, it cannot be too large. It is because cause the malfunction of equipment, circulation of a solution or biomass is made difficult or various inconvenience is made to occur with an unsuitable dimension. Therefore, as for the perimeter die length of each cel, it is desirable to consist of 5cm - 100cm so that it may be limited below about a drawing. Similarly, as for the height of each cel, it is desirable that it is for 100cm - 250cm. The too short cel will limit the possibility of a volume greatly, while a too tall cel causes the difficulty of actuation, although it will probably be clear for this contractor.

[0017] The cross section (seeing as the level surface) of each cel can serve as various configurations. However, generally for the ease on structure study-reinforcement and manufacture, elliptical is desirable. He could understand further \*\*\*\* thru/or other focus, and the advantage concerning this invention by the publication of the following desirable modes, referring to a drawing.

[0018] In drawing 1 , this equipment consisted of a frame upright that whole is indicated to be by 1, and this frame upright is equipped with the base 3, the vertical column 2 connected with the ground surface by 3', and 2'. A horizontal bracing 4 is used in order to hang each cel, and the slot will be used in order to make each cel convey gas. The cel of the example of a graphic display is a duplex cel which consists of two separate cels 5 and 6, it approaches mutually and a majority of such duplex cels are arranged in order to make a compact single body form. It is not desirable for the clearance G in drawing to be shown only for an illustration, and to usually establish such a clearance in the equipment of this invention.

[0019] As mentioned above, gas is blown into a cel through the pipe 7 on the basis of the central pipe with which it was equipped with many T form connection members 8 while being able to arrange it in a horizontal bracing 4, as shown in drawing. Gas is discharged through opening in a cel (not shown). The central pipe 9 is formed in the pars basilaris ossis occipitalis of equipment, and this central pipe 9 is connected with the pump member (not shown) with which is

arranged far away from the equipment concerned, and much same equipments are presented. Restoration / recovery tube 10 is formed in each cel, pumping of the biomass contained in the cel through this is carried out with a pipe 9, and it is collected. And it re-fills up with a nutrient solution by reversing the direction of pumping.

[0020] The example of a graphic display shown in drawing 2 shows the equipment concerning other desirable examples of this invention, and according to this, all cels are prepared in the single body. These cels set the polyethylene of two sheets, and it welds and they are formed so that an opening cel may be formed in the two sheets. It is made to form a cel 11, as drawing 2 (a) is shown by the welding line 12 and 12' which demarcate the boundary of a cel. The include angle is provided in the soffit of a weld zone as shown by the arrow head 13. The reason for having made this cusp weld zone form is that it is desirable to establish a cusp edge in each cel in order to flow out at the rate to which the gas introduced into that location with the immersion pipe was made to increase, and for up to go and to promote fluidization of biomass by that cause.

[0021] As shown in the equipment of drawing 1, a frame consists of two vertical members 2, 2', and a horizontal bracing 4, and the cel group collectively shown by 14 is hung from this horizontal bracing 4. Like the example mentioned above, the entrainment of gas (usually air and 2-3% of CO<sub>2</sub>) is attained by the pipe 7, and the recovery and re-restoration of a nutrient solution in each cel are attained by the tube 10. And it is made to connect all these tubes 10 with a pipe 9, and they are made to connect this pipe 9 with a pump means further.

[0022] If radical preparation of a majority of such equipments is carried out, it will be understood by making it empty or being re-filled up with one or a large number of these equipments, or all equipments at once, according to the capacity (however, the flexibility of actuation being made rich if a majority of such equipments are used) of piping and pumping plant, that recovery and re-restoration of a nutrient solution can be performed.

[0023] a majority of equipments as shown in drawing 2 with the natural thing -- a

single tier -- arranging -- or an edge and an edge -- doubling -- arranging -- assembly \*\*\*\*\* -- it can do -- \*\* -- the array of equipment [ like ] is acquired. Moreover, this will be understood if it looks at drawing 2 R> 2 (b) which saw equipment from the side face. Drawing 2 (c) shows how the cel group 14 of drawing 2 (a) was assembled. This drawing is a sectional view when seeing in respect of AA of 2 (a), and the weld zone 16 is formed between the ingredient 15 of two sheets by which isolation arrangement was carried out, and 15'. The last configuration is a configuration of many cels, and the distance between cels is the distance between weld zones.

[0024] As mentioned above, it is desirable during a hot time zone, especially a summer to cool biomass. Although this can be attained by various approaches, the convenient means of cooling consists of sprinkling along with each cel, when atmospheric temperature rises. This can be easily attained by making a water spray means arrange to the perimeter of the upper bed section of each cel connected with the common feed water pipe. Water spray is attained by the temperature control by the thermocouple inserted for example, into the culture, or this contractor with other suitable obvious means. By making the outside surface of a cel become wet, cooling of the biomass by clearance of the evaporation and the heat from a nutrient solution is possible.

[0025] The equipment of drawing 2 is used for conducting comparative experiments with growth by Ikenaka so that it may mention later.

[0026]

[Example]

Example 1 equipment is produced according to the example of a graphic display of drawing 2 which has the following structural description. namely, the horizontal section of each cel -- a boundary length -- :40cm, height-Total:2.0m, and Full: -- between two cels which adjoin 1.80m -- distance:2cm. In this equipment, growth of green minute algae chlorella EMASONI is seen, and many matter is obtained. On the outdoors, it started from 1x10<sup>6</sup> cells/ml biomass, and growth was performed using N-8 nutrient solution shown with the following table 1.

[0027] pH of a solution is 6-7.

[0028]

[A table 1]

表 1

<u>成 分</u>	<u>栄養液中の重量 ( g / l )</u>
KNO <sub>3</sub>	0.1 - 1.000
CaCl <sub>2</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0.013
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0.260
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.740
MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0.050
FeEDTA	0.010
Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> x 18H <sub>2</sub> O	0.035 x 10 <sup>-4</sup>
MnCl <sub>2</sub> x 4H <sub>2</sub> O	0.013 x 10 <sup>-3</sup>
CuSO <sub>4</sub> x 5H <sub>2</sub> O	0.018 x 10 <sup>-4</sup>
ZnSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0.032 x 10 <sup>-3</sup>
CoSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0.018 x 10 <sup>-4</sup>

[0029] Same growth was performed in much Ikenaka who consists of area 2 and a depth of 20cm of 1m, stirring with an impeller. Both cases of initial condition and growth conditions were the same. Many parameters were measured with time and the experiment was conducted for 21 days. Measured value was the content of the number of cells of minute algae, biomass, carotinoid canthaxanthin, and chlorophyll. The content of these coloring matter serves as a scale of the effectiveness of an optical operation so that clearly for this contractor.

[0030] As shown in drawing 3 thru/or 6, the production in all the cases in the equipment of this invention is farther [ than the production in Ikenaka corresponding to this ] efficient. Only as for canthaxanthin, the difference became

clear 12 days after. The parameter measured as mentioned above shows the efficient nature of the equipment of this invention.

[0031] The detail about chlorella EMASONI (*Chlorella emersoniini*) was shown by the example 2 above-mentioned result. However, it is clear that the same advantage exists also in growth of other kinds. This advantage is still more remarkable when the matter which will be produced by microorganism like a carotinoid like the case of an example 1 is produced by the concentration depending on the ability for high interest of the light of a cell. For example, when *Dunaliella* BAL DAIRU (*Dunaliella bardawill*) was made to grow with the equipment of drawing 2, it turned out that it becomes clear that such growth is effective similarly, and it excels as compared with growth by Ikenaka.

[0032] The following reaches constitutionally and the data on actuation are used for these experiments.

The solution containing the component enumerated by the following table 2 as a nutrient solution nutrient solution was used. pH of a solution is 7-8.

[0033]

[A table 2]



表 2

<u>成 分</u>	<u>栄養液中の重量 ( g / l )</u>
NaCl**	150 - 250
NaHCO <sub>3</sub>	0.420
KNO <sub>3</sub>	0.03 - 0.09
CaCl <sub>2</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0.030
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.272
MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	1.240
MnCl <sub>2</sub> x 4H <sub>2</sub> O	0.400 x 10 <sup>-3</sup>
CuCl <sub>2</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0.040 x 10 <sup>-3</sup>
ZnCl <sub>2</sub>	0.040 x 10 <sup>-3</sup>
CoCl <sub>2</sub> x 6H <sub>2</sub> O	0.015 x 10 <sup>-3</sup>
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.600 x 10 <sup>-3</sup>
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> x 4H <sub>2</sub> O	0.370 x 10 <sup>-3</sup>

-----  
 \*\* Dissolved in tap water.

[0034] The equipment by which the growth equipment activity was carried out is shown in drawing 2 , and the height of each cel is [ 36cm and the total amount per each cel of 200cm (total) and 170cm (full), and the perimeter die length of each cel ] about 18l. The array of four trains (four sets of namely, the equipments shown in drawing 2 ) is adopted, and including 30 cels per train, die length is set to 4m, and the total capacity becomes 540l. and turns into a total amount of 2160l. as the whole equipment. The distance between each trains is 2m, and the gross area which the whole equipment occupies is 27.2 square meters.

[0035] A pipe 10 ( drawing 2 ) is initiation minded [ of growth ], and it is per [ 3x105 ] ml. It filled up with the nutrient solution containing D. BAL DAIRU of cell

density. The concentration of 8.6microg [ ml ] /and chlorophyll of the concentration of the beta carotene in the solution was 1.0microg/ml.

Recovery was performed, when the measurement concentration of the beta carotene in a solution reached [ ml ] in 40 to 60 microg /in a summer and the value reached [ ml ] in 30 to 40 microg /in winter on the conditions that the ratio of concentration of the beta carotene to recovery chlorophyll is eight or more.

The number of cells per 1ml of culture medium was [ 1.5-2x10<sup>6</sup> and the summer's winter ] 1-1.5x10<sup>6</sup>.

[0036] Recovery is performed by making ejection and this precipitate on a cone tank in 50% of a solution through a pipe 9 ( drawing 2 ). Precipitation is completed about 12 to 24 hours after, and the up fraction from a tank is again returned to a cel through a pipe 9. The nutrient solution fresh to each cel was filled up. The biomass made to precipitate from each cel occupied about 3% of the whole cel product.

[0037] The engine performance of performance test equipment was determined by the amount of beta carotene you were made to produce. Two experiments which are different in winter and a summer, respectively were conducted.

The production production test of a summer was performed at the period on April 30, 1991 to June 11 (for 42 days), 1991. The test result is shown in the following table 3.

[0038]

[A table 3]

表 3

回収日 (1991)	培養物中の β-カロチンの 濃度 (mg/ml)	回収された β-カロチン量 (mg/l)
5月11日	81	40.5
5月20日	53	26.5
5月26日	46	23.0
5月30日	42	21.0
6月2日	41	20.5
6月6日	40	20.0
6月9日	41	20.5
6月11日	30	15.0

[0039] In this experiment, the beta carotene of total amount 403.92 g was produced. The temperature of the culture medium of day ranges was 28 to 32 degree C (maintained by cooling by the sprinkler). The reinforcement of the sunrays in the area concerned was 2,000-2,500microE/(m<sup>2</sup> xsec). 9 cis-: All trans-isomer ratios were 60:40.

The production production test of winter was performed at the period on October 20, 1991 to December 8 (for 50 days), 1991. The experimental result is shown in the following table 4.

[0040]

[A table 4]

表 4

回収日 (1991)	培養物中の β-カロチンの 濃度 (mg/ml)	回収された β-カロチン量 (mg / l)
10月26日	32	16
11月 3日	36	18
11月 7日	30	15
11月11日	32	16
11月17日	36	18
11月24日	37	18.5
11月28日	27	13.5
12月 8日	36	18

[0041] In this experiment, the beta carotene of total amount 287.28 g was produced. The temperature of culture medium was changed in for about 20 degrees C at 4:00 p.m. from about 5 degrees C at 8:00 a.m. The reinforcement of the sunrays in the area concerned was 100-700microE/(m<sup>2</sup> xsec). 9 cis-: All trans-isomer ratios are 75. : It was 25. The above is not for being carried out in order to show an example, and limiting this invention. This invention can be applied to growth of the microorganism of varieties, and is not limited and used for specific biomass. Furthermore, it is the limitation which does not deviate from the range of this invention, and it is possible to offer the configuration of a configuration, a cel, or a frame where many differed, a component, etc.

---

[Translation done.]

\* NOTICES \*

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.

3.In the drawings, any words are not translated.

---

## DESCRIPTION OF DRAWINGS

---

[Brief Description of the Drawings]

[Drawing 1] The equipment by one example of this invention is shown.

[Drawing 2] The equipment by other desirable examples of this invention is shown.

[Drawing 3] the comparisons of the number of cells been alike and related are indicated to be growth of chlorella EMASONI (*Chlorella emersonii*) made to grow by Ikenaka, and its growth by this invention.

[Drawing 4] The comparison of the biomass of chlorella is shown about Ikenaka and the equipment of this invention.

[Drawing 5] The volume of the canthaxanthin (canthaxanthin) in the equipment of Ikenaka and this invention is shown.

[Drawing 6] The comparison of the volume of chlorophyll is shown about Ikenaka and the equipment of this invention.

---

[Translation done.]

**\* NOTICES \***

**JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.**

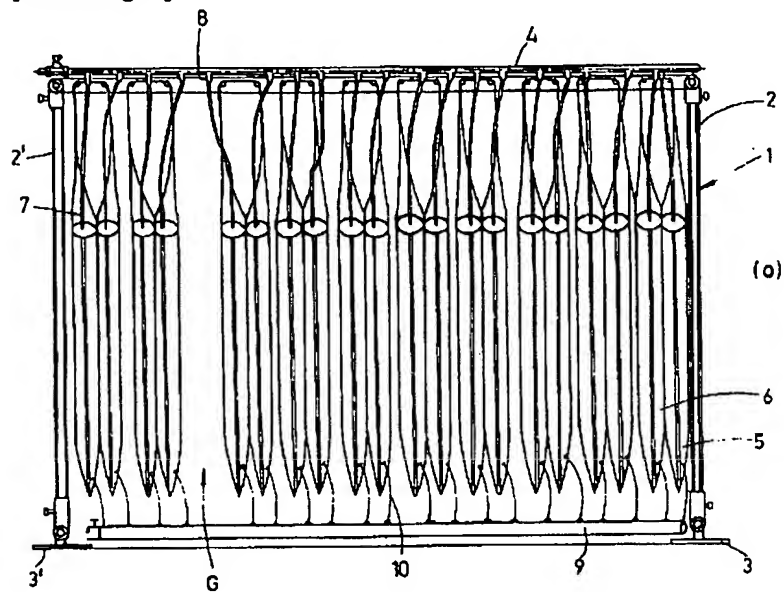
1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.

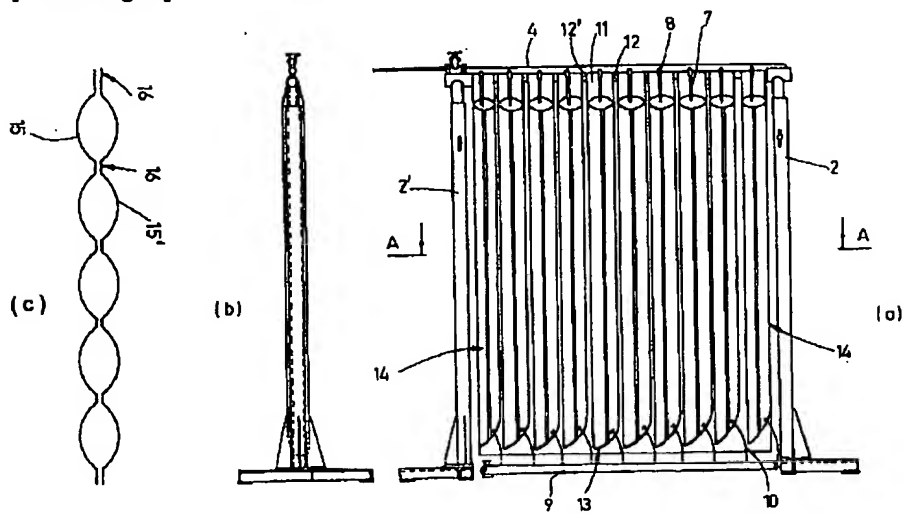
3.In the drawings, any words are not translated.

# DRAWINGS

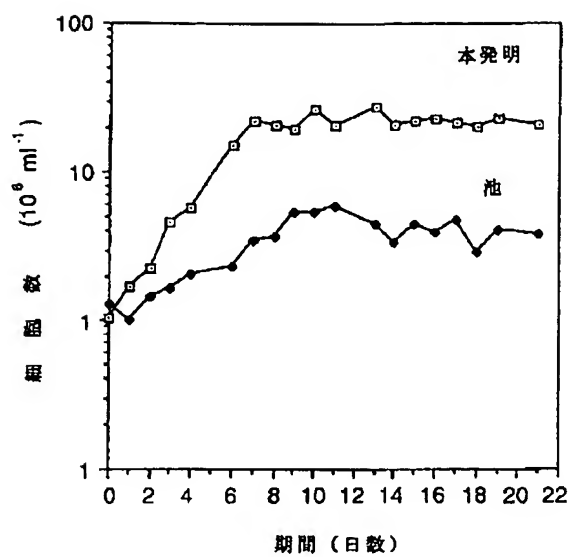
[Drawing 1]



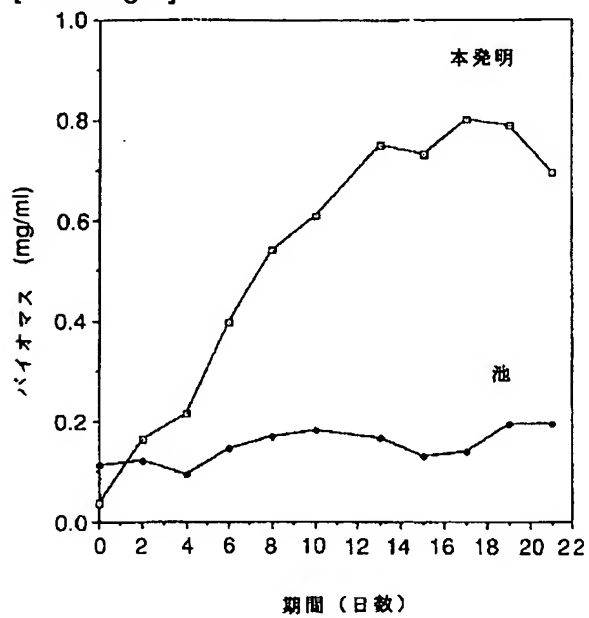
[Drawing 2]



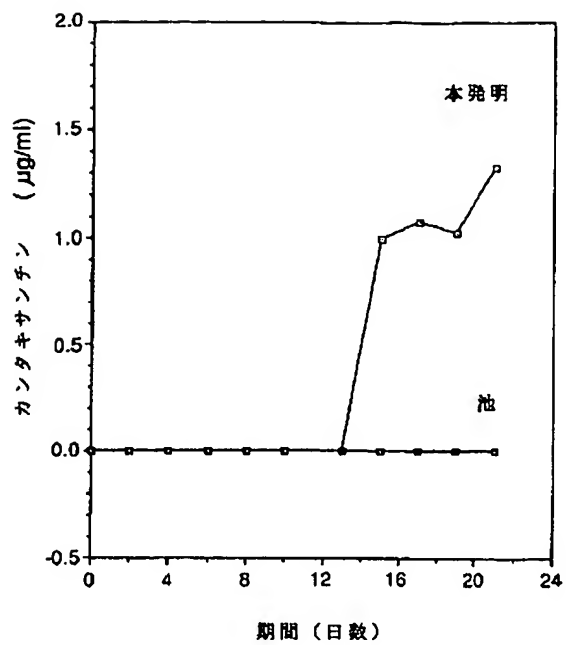
[Drawing 3]



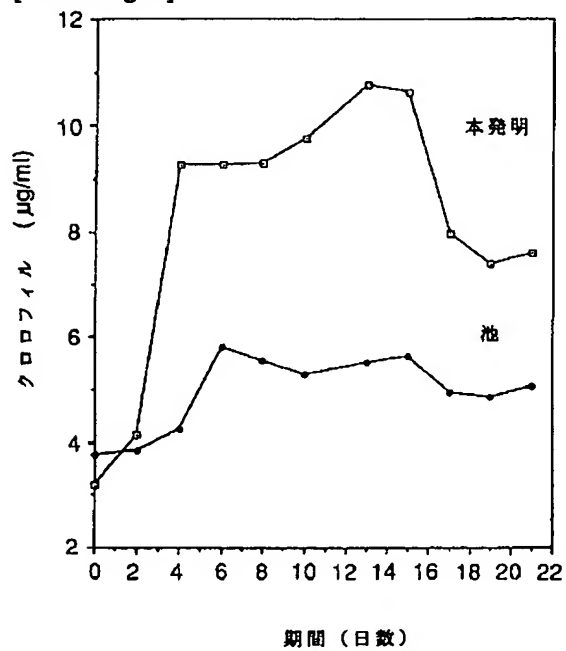
[Drawing 4]



[Drawing 5]



[Drawing 6]



[Translation done.]



(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-209757

(43)公開日 平成6年(1994)8月2日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 M 1/00	E			
3/00	B			
C 1 2 P 23/00		8931-4B		
// (C 1 2 P 23/00				
C 1 2 R 1:89)				

審査請求 未請求 請求項の数26 O L (全 10 頁)

(21)出願番号 特願平5-134979

(22)出願日 平成5年(1993)6月4日

(31)優先権主張番号 1 0 2 1 8 9

(32)優先日 1992年6月12日

(33)優先権主張国 イスラエル (I L)

(71)出願人 593107591

ベン・グリオン ユニバーシティー オブ  
ザ ネゲヴ, リサーチ アンド ディベ  
ロップメント オーソリティー  
イスラエル国 ビアーシーヴァ, ピー. オ  
ー. ボックス 1025

(72)発明者 ショシャナ (マリス) アラッド  
イスラエル国 オメル, エシェル スト  
リート 23エイ

(72)発明者 エブライム コーヘン  
イスラエル国 レハヴィム, ヴェレッド  
ストリート 62

(74)代理人 弁理士 平木 祐輔 (外2名)

(54)【発明の名称】 微生物成長装置

(57)【要約】 (修正有)

【目的】 微生物、特に藻類の工業的規模の屋外生産装置の提供。

【構成】 以下の組み合わせからなる微生物成長装置、

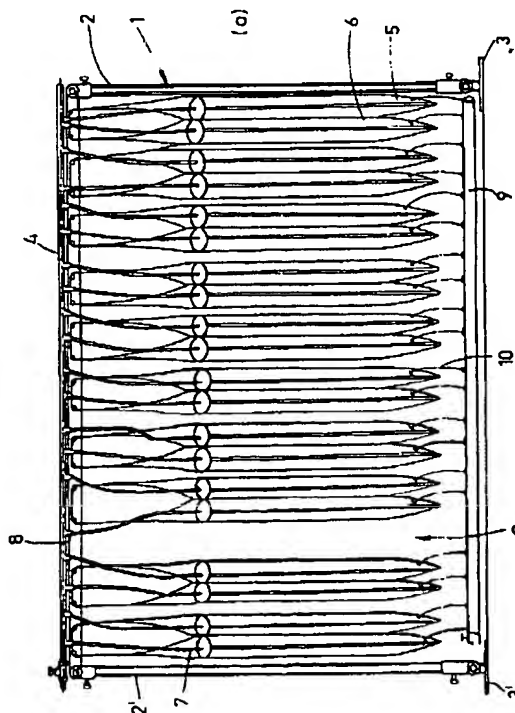
a) バイオマスを含むことができる、多数の垂直方向に延びた透明な可撓性のセル；

b) 前記多数のセルを互いに接近させて、並列にかつ垂直方向に支持せしめる垂直支持手段；

c) バイオマスを通して栄養分又は他のガスを吹き入れ、それぞれのセルのベンチレーションを可能にする、少なくとも一つのガス入口と一つのガス出口；

d) 栄養液をバイオマスに供給せしめるとともに各セルからバイオマスを回収せしめることを可能にする、少なくとも一つの入口及び／又は出口；

e) 前記多数のセルの全部又は一部から回収されたバイオマスを成長装置から受け取り搬送させる、前記出口の各々に連結せしめられた共通の搬送手段。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 以下の組み合わせ：

- a) バイオマスを含むことができる、多数の垂直方向に延びた透明な可撓性のセル；
- b) 前記多数のセルを互いに接近させて、並列にかつ垂直方向に支持せしめる垂直支持手段；
- c) バイオマスを通して栄養分又は他のガスを吹き入れ、それぞれのセルのベンチレーションを可能にする、少なくとも一つのガス入口と一つのガス出口；
- d) 栄養液をバイオマスに供給せしめるとともに各セルからバイオマスを回収せしめることを可能にする、少なくとも一つの入口及び／又は出口；
- e) 前記多数のセルの全部又は一部から回収されたバイオマスを成長装置から受け取り搬送させる、前記出口の各々に連結せしめられた共通の搬送手段；を含む微生物成長装置。

【請求項2】 前記垂直支持部材は、少なくとも二本の垂直部材と一本の上部水平部材を有する垂直フレームからなり、前記上部水平部材は前記多数のセルの荷重を支持し得るようにしてある請求項1記載の装置。

【請求項3】 前記多数のセルは、垂直フレームの水平部材に連結可能な連結手段を備えられ、これにより前記水平部材に連結されたときに多数のセルが該水平部材から多数のセルが懸吊せしめられた請求項2記載の装置。

【請求項4】 隣接する二つのセル間の距離が100mm以下である請求項1記載の装置。

【請求項5】 各セルが別々に垂直フレームに連結せしめられた請求項4記載の装置。

【請求項6】 各々隣接する二つのセルが少なくとも一点で連結せしめられた請求項1記載の装置。

【請求項7】 全てのセルが連結せしめられて単一物体を形成した請求項4記載の装置。

【請求項8】 少なくとも一つのガス入口が空気用の浸漬パイプからなり、該浸漬パイプの直径は、セル内のバイオマスを攪拌するのに十分な空気流量を許容できる大きさである請求項1記載の装置。

【請求項9】 所定温度を超過したときに、前記セル内に収容されたバイオマスを冷却せしめる冷却手段を備えた請求項1記載の装置。

【請求項10】 前記冷却手段は、散水手段からなる請求項9記載の装置。

【請求項11】 前記セルは、溶接可能な材料から作られる請求項1記載の装置。

【請求項12】 前記多数のセルは、二層の溶接可能な材料を間隔をおいて垂直方向に溶接することにより形成された請求項7記載の装置。

【請求項13】 前記溶接可能な材料はポリエチレンである請求項11記載の装置。

【請求項14】 隣接したセル間を相互に連絡せしめる通路を備えた請求項1記載の装置。

【請求項15】 各セルの水平断面での周囲長さが5cmから100cmの間である請求項2記載の装置。

【請求項16】 各セルの高さが100cmから250cmの間である請求項2記載の装置。

【請求項17】 各セルの底部の形状が円錐形であり、バイオマスの流動化及び攪拌を促進するとともにバイオマスの沈積を防止した請求項1記載の装置。

【請求項18】 以下の工程：

1) 次の組み合わせからなる成長装置を用意すること：

- a) バイオマスを含むことができる、多数の垂直方向に延びた透明な可撓性のセル；
- b) 前記多数のセルを互いに接近させて、並列にかつ垂直方向に支持せしめる垂直支持手段；
- c) バイオマスを通して栄養分又は他のガスを吹き入れ、それぞれのセルのベンチレーションを可能にする、少なくとも一つのガス入口と一つのガス出口；
- d) 栄養液をバイオマスに供給せしめるとともに各セルからバイオマスを回収せしめることを可能にする、少なくとも一つの入口及び／又は出口；

e) 前記多数のセルの全部又は一部から回収されたバイオマスを成長装置から受け取り搬送させる、中央の搬送手段；

2) 前記セルに成長させるべき細胞を含んだ栄養液を充填すること；

3) 効率的なバイオマスの攪拌及び該バイオマスからの酸素の除去が得られるのに十分な量の空気を前記栄養液に吹き入れること；

4) 成長を促進するに足る量のCO<sub>2</sub>をバイオマスに供給すること；

5) 各セルに含まれた容量の一部を除去し、それに含有された固体を沈殿させるとともに、固体を沈殿させた溶液を前記セルへ再循環させながら、成長させたバイオマスを定期的に回収すること；

6) 必要により栄養液及び／又は物質を前記セルに補充すること；

を含む、微生物から物質を生産する方法。

【請求項19】 工程(6)の補充用栄養液は、少なくとも一部がバイオマス分離工程からの再循環栄養液を含む請求項18記載の方法。

【請求項20】 空気とともにCO<sub>2</sub>が供給せしめられる請求項18記載の方法。

【請求項21】 空気中のCO<sub>2</sub>含有率が約2-3%である請求項20記載の方法。

【請求項22】 前記微生物は、微小藻類である請求項18記載の方法。

【請求項23】 前記微小藻類は、クロレラ・エマーソンニ (*Chlorella emersonii*) 及びドナリエラ種 (*Dunaliella* sp.) から選択された請求項22記載の方法。

【請求項24】 生産された物質は、β-カロテンである請求項22又は23記載の方法。

【請求項25】 生産された物質は、カンタキサンチン (canthaxanthin) である請求項22又は23記載の方法。

【請求項26】 本質的に記載及び例示された方法で、微生物から物質を生産せしめる方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、微生物、特に藻類の成長装置に関する。さらに詳細には、工業的規模での微生物の屋外生産装置に関する発明である。

【0002】

【発明の背景】屋外での微生物の成長は、光がそのような微生物に有益な効果を及ぼすような多くの場合に実施される。屋外で育成される微生物は、通常、微小藻類であり、説明の便宜上、明細書を通しては微小藻類について言及するが、このことは、成長に光の条件を必要としない種を含めて他の種を成長させるための装置の発明に限定するものではないことは理解できるであろう。本発明によって成長させることができる微生物の例としては、真菌類、酵母、バクテリア、大型藻類 (macroalgae)、植物細胞、線虫類などである。

【0003】

【従来の技術】微小藻類は、工業的量のバイオマス生産が望ましい場合には、成長のために日光を活用しながら屋外の池で成長せしめられるのが通常である。また、米国特許第2,732,663号、第3,955,317号、及び第4,868,123号などに開示された、種々の装置は、一般的に、工業的規模における技術的及び商業的成功に至っていないにもかかわらず、屋外での透明チューブを含む装置で微小藻類を成長させる試みがなされている。

【0004】しかしながら、上記方法は重大な欠点をもっている。池での生産は非効率的であり、光を通しにくいこと、一日のうちの激しい温度変化、敵対微生物による汚染、酸素の蓄積、塩水化をもたらす蒸発、などに起因する問題に直面している。透明なチューブやパイプ内での生育が提案されているが、公知の成長方法は全て、非効率的であるという重大な欠点を有するのみならず、特に、低生産性及び装置の高コスト化のために工業的規模には適用できない。

【0005】

【発明の解決しようとする課題】本発明の目的は、微生物の成長装置、特に、屋外で、工業的規模で比較的低コストにより高い生産高を得ることができる、微小藻類の成長装置を提供することである。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明による微生物成長装置は、

a) バイオマスを含むことができる、多数の垂直に延びた透明な可撓性のセル；

b) 前記多数のセルを互いに接近させて、並列にかつ垂

直方向に支持せしめる垂直支持手段；

c) バイオマスを通して栄養分又は他のガスを吹き入れ、それぞれのセルのベンチレーションを可能にする、少なくとも一つのガス入口と一つのガス出口；

d) 栄養液をバイオマスに供給せしめるとともに各セルからバイオマスを回収せしめることを可能にする、少なくとも一つの入口及び／又は出口；

e) 前記多数のセルの全部又は一部から回収されたバイオマスを成長装置から受け取り搬送させる、前記出口の各々に連結せしめられた共通の搬送手段、とを組合せたものからなる。

【0007】このようにして、後述されるように、本発明によれば、垂直方向での成長が高い生産性を示すので、比較的狭い場所を占める装置でも多量のバイオマスを成長させることができる。本発明の好ましい態様によれば、垂直支持手段は、少なくとも二本の垂直部材と、前記多数のセルの重量を支持するのに好適な一本の上部水平部材とを有する、垂直フレームからなる。

【0008】前記多数のセルをフレームに結合させるために、セルには垂直フレームの水平部材と連結可能な連結手段が準備されており、それにより、前記多数のセルは、前記水平部材と連結されたときに、そこから吊下げられる。本発明の好ましい様態の一つによれば、隣接する各々二つのセルは少なくとも一点において連結されており、それらがすべて相互に連結されていることが望ましい。これは、様々な方法によって達成することが可能である。例えば、一つのセルから他のセルへマスを搬送できるように、隣接する二つのセル間の溶接部に開口部が残されたり、あるいは、外部連結手段を、例えばセルの末端において、準備することができ、これにより全てのセルを共通の運搬手段に連結することができ、これにより、例えば、システムの特別な要求によって指示される通りに、同時もしくは交互に、完全に又は部分的に、セルを空にすることができる。このことは、理解されるように、操業に関して相当の柔軟性を許容せしめるものであり、本発明の他の利点でもある。

【0009】上述したように、本発明の目的の一つは、比較的少ないスペースを活用しながら、高収量のバイオマスを生産する効率的な装置を提供することである。このことは重要である。なぜなら、工業的量でバイオマスを生産するためには、装置の構成を平方メートル当たりのバイオマスの所定生産量に適合させねばならないし、しかも、最小値よりも下回るべきでないからである。微小藻類の生産において、 $25 \text{ g/m}^2 \cdot \text{日}$ のバイオマスの成長が、工業的生産の上限であると当分野では認められている。しかしながら、池中での微小藻類の成長の実際の生産高は、通常、 $2.5 - 10 \text{ g/m}^2 / \text{日}$ を超えることはない。

【0010】本発明の好ましい態様においては、隣接する二つのセル間の距離は $100 \text{ mm}$ またはそれ以下であ

る。これは、光の透過に関する限り、装置の生産量を増加せしめる目的のみならず、隣接するセル間の干渉を回避あるいは最小にするために重要である。本発明の装置は、夏月間において、すばらしい光の条件を活用しながらも過度の高温を回避することを可能にするばかりでなく、冬月間においても、より高くより好ましい温度を得ることを可能にする。

【0011】本発明の装置における微小藻類の生産は、pH制御の必要なしに、回収時における微小藻類の沈澱を可能にするという重要な利点がある。これと比較して、先行技術による装置では、例えば、適当な円錐形状の収集器内に藻体を沈澱させる前に、藻類含有栄養液内のpHを制御する必要がある。なぜならば、そうしなければ、不完全な沈澱が生じるか、または全く沈澱が生じないし、バイオマスが栄養液によって沈澱領域から運び去られるからである。例えば、バイオマス生産に重要な藻類であるドナリエラ (Dunaliella) 種を回収する間は、沈澱を得るためにバイオマスのpHを通常値の7.0-7.5から約pH5.5にまで低下させる必要がある。これとは対照的に、本発明による装置によってドナリエラ種を成長させた場合には、成長が生起するのと同じpHで、例えばpH7.0-7.5で沈澱が起こる。この予期しえぬ作用は、本発明の一部でもあるが、十分には解明されていない。どのような特別な理論によっても限定されることを望まないが、発明者等は、この作用の理由は体積当たりの増加した細胞密度、あるいは、従来の方と対比させて、本発明により成長せしめられた藻類によって生産された、例えばβ-カロチンのような種々の物質の増加にある、と考えている。どちらにせよ、この作用は、どのような処理もpH調節も行わずに、バイオマスの沈澱直後に、栄養液を成長装置に循環させることを可能にするものである。

【0012】どのような機械的加工処理も含まず (例えば、遠心分離法)、また、多量の細胞破壊をも生じさせないので、栄養液はグリセロールやβ-カロチンのような有機物質に汚染されておらず、したがって、それを直接循環させることができる。当業者には明らかであるように、これは先行技術のプロセスよりも製法的にも経済的にもかなり優れたものである。なぜならば、先行技術のプロセスが実験室規模で行われた場合には、栄養液の循環がさほど重要ではないのに対し、本発明による場合のように、工業的生産が考慮されたときには経済的に重要となるからである。

【0013】本発明の一態様において、各々のセルは別々に垂直フレームに連結されるとともに、それらセルは単一物体を形成するように互いに近接して配置されている。本発明の最も好ましい態様によれば、全てのセルが連結により単一物体を形成せしめられたものである。セルは溶接可能な材料からなるのが好ましい。したがって、当業者には理解されるように、本発明の装置は様々

な態様に組み立てることができる。例えば、多数のセルが互いに近接して別々に用意され、その後、隣接するセル同志を溶接することができる。本発明のさらに好ましい態様によれば、多数のセルは、二層の溶接可能な材料を垂直に距離を置いて溶接することにより形成される。

【0014】セルが形成される材料を限定することは本発明者等の意図するところではなく、しかも、そのようなセルは、適切な機械的及び光学的特性を備えたものであれば、どのような適当な材料で構成されていてもよいが、ポリエチレンが便利で適切な材料であることが判明している。なぜならば、ポリエチレンは溶接し易く、光の透過性が良好で、操作中の摩擦にも比較的強いからである。ポリエチレンと一緒に、あるいはそれに代替して用いても良い、他の適切な材料としては、例えば、ポリアミドやPVCなどが挙げられる。

【0015】本発明の他の態様において、別々のセルは、バイオマス及び/又は栄養液を一つのセルから他のセルへ通過及び循環可能ならしめる、例えばチューブや開口部などの連結手段を用いることにより相互に連絡させることができる。これは、それぞれのセル内での条件をできる限り均質化させたい場合での適用に便利である。

【0016】当業者には理解されるであろうが、各々のセルの幅は小さ過ぎても大き過ぎてもいけない。なぜならば、不適切な寸法では、装置の機能不全を招いたり、溶液やバイオマスの循環を困難にしたり、様々な不都合を生起させるからである。したがって、各々のセルの周囲長さは、図面に関して以下で限定されるように、5cm~100cmからなることが好ましい。同様に、各々のセルの高さは100cm~250cmの間であることが望ましい。当業者にとって明らかであろうが、あまりに背の高いセルは操作の困難を招く一方、あまりに背の低いセルは生産量の可能性を甚だしく限定してしまうであろう。

【0017】各々のセルの横断面 (水平面として見て) は様々な形状となり得る。しかしながら、構造学的な強度及び製造上の容易性のためには、楕円形状が一般的に好ましい。本発明に係わる上述乃至他の特徴点及び長所は、図面を参照しながら、以下の好ましい態様の記載によりいっそう理解できるであろう。

【0018】図1において、この装置は、その全体が1で示される垂直フレームからなり、該垂直フレームはベース3、3'により地面に連結された垂直柱2、2'を備えている。水平部材4は個々のセルを吊り下げるために用いられ、溝は各々のセルにガスを搬送させるために用いられるであろう。図示例のセルは、二つの別々のセル5、6からなる二重セルであり、そのような多数の二重セルは、コンパクトな単一物体を形成させるべく互いに近接して配置されている。図における隙間Gは図解のためにのみ示されたものであって、通常、そのような隙間を本発明の装置に設けることは望ましくない。

【0019】前述したように、ガスは、図に示されるように、水平部材4内に配設可能であるとともに多数のT形連結部材8が装着された、中央パイプを起点としたパイプ7を通してセル内に吹き込まれる。ガスはセル内の開口を通して排出される（図示せず）。装置の底部には中央パイプ9が設けられており、該中央パイプ9は、当該装置から遠方に配置されかつ多数の同様の装置に供される、ポンプ部材（図示せず）に連結されている。それぞれのセルには充填・回収チューブ10が設けられ、これを介してセル中に含有されたバイオマスがパイプ9によりポンプ輸送され回収される。そして、ポンプ輸送方向を逆転させることにより栄養液が再充填される。

【0020】図2に示された図示例は、本発明の他の好ましい実施例に係わる装置を示しており、これによれば全てのセルが単一物体に設けられている。これらのセルは、二枚のポリエチレンを合わせ、その二枚間に空隙セルが形成されるように溶接して形成されている。図2（a）において示される如く、セル11は、セルの境界を画する溶接ライン12、12'によって形成せしめられている。矢印13で示されるように、溶接部の下端には角度が設けられている。この尖頭溶接部を形成せしめた理由は、浸漬パイプによりその位置に導入されたガスが増加せしめられた速度で流出して上っていき、それによりバイオマスの流動化を促進させるために、各々のセルに尖頭端を設けるのが望ましいからである。

【0021】図1の装置に示されるように、フレームは、二本の垂直部材2、2'と、水平部材4とからなり、該水平部材4から集散的に14で示されたセル群が吊り下げられている。前述した例と同様に、ガス（通常は空気及び2-3%のCO<sub>2</sub>）の吹き込みはパイプ7で達成され、また、各々のセルにおける栄養液の回収及び再充填はチューブ10により達成される。そして、これら全てのチューブ10はパイプ9に連結せしめられ、さらに、該パイプ9はポンプ手段に連結せしめられている。

【0022】このような装置が多数基用意されれば、それら装置の内の一つ又は多数を、あるいは全装置を一度に、配管及びポンプ装置の容量に応じて（ただし、このような装置を多数使用すれば操作の柔軟性を富ませることができる）、空にしたり再充填することにより、栄養液の回収及び再充填が行える、ということが理解される

であろう。

【0023】当然のことながら、図2に示されたような装置の多数を、一列に並べて、または、端部と端部を合わせて配置して組立ることができ、かような装置の配列が得られる。また、これは、装置をその側面からみた図2（b）を眺めれば理解されるであろう。図2（c）は、図2（a）のセル群14がいかに組立てられたかを示すものである。この図は、2（a）のAA面で見たときの断面図であり、隔離配置された二枚の材料15、15'の間に溶接部16が設けられている。その最終形状は多数のセルの形状であり、セル間の距離は溶接部間の距離である。

【0024】上述のように、暑い時間帯、特に夏期中は、バイオマスを冷却することが好ましい。これは種々の方法により達成できるが、冷却の便利な手段は、気温が上昇したときに各々のセルに沿って散水することからなる。これは共通の給水パイプに連結された、各々のセルの上端部の周囲に散水手段を配備せしめることにより容易に達成できる。散水は、例えば、培養物内に挿入された熱電対による温度制御、あるいは当業者に自明の他の適当な手段により達成される。セルの外表面を湿らせることにより、栄養液からの蒸発及び熱の除去によるバイオマスの冷却が可能である。

【0025】図2の装置は、後述するように、池中での成長との比較実験を行うのに用いられる。

【0026】

【実施例】

実施例1

装置は、次の構造的特徴を有する図2の図示例にしたがって作製されている。すなわち、各々のセルの水平断面の周囲長さ：40cm、高さ—Total：2.0m、Full：1.80m、隣接する二つのセル間距離：2cm。本装置において、緑色微小藻類クロレラ・エマーソニの成長が見られ、それから多数の物質が得られる。成長は、屋外において、 $1 \times 10^6$  cells/mlのバイオマスから開始し、下記の表1で示したN-8栄養液を用いて行った。

【0027】溶液のpHは6-7である。

【0028】

【表1】

表 1

成 分	栄養液中の重量 (g / l)
KNO <sub>3</sub>	0.1 - 1.000
CaCl <sub>2</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0.013
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0.260
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.740
MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0.050
FeEDTA	0.010
Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> x 18H <sub>2</sub> O	0.035 x 10 <sup>-4</sup>
MnCl <sub>2</sub> x 4H <sub>2</sub> O	0.013 x 10 <sup>-3</sup>
CuSO <sub>4</sub> x 5H <sub>2</sub> O	0.018 x 10 <sup>-4</sup>
ZnSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0.032 x 10 <sup>-3</sup>
CoSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0.018 x 10 <sup>-4</sup>

【0029】同様の成長は、面積1m<sup>2</sup>、深さ20cmからなる多数の池中において、羽根車でかき混ぜながら行われた。両方の場合とも、初期条件及び成長条件は同一であった。多数のパラメータが経時的に測定され、実験は21日間行われた。測定値は、微小藻類の細胞数、バイオマス、カロチノイドカンタキサンチン及びクロロフィルの含有量であった。これら色素の含有量は、当業者にとって明らかなように、光作用の効果の尺度となる。

【0030】図3乃至6に示されるように、本発明の装置における全ての場合の生産は、これに対応する池中における生産よりもはるかに効率的である。カンタキサンチンだけは、12日後に相違が明らかになった。上記のように測定されたパラメータは、本発明の装置の高効率性を示している。

#### 【0031】実施例2

上述の結果は、クロレラ・エマーソニ (Chlorella emersonii) についての詳細が示された。しかしながら、他の種の成長においても同じ長所が存在することは明らかである。実施例1の場合と同様に、例えばカロチノイドのような微生物により生産されるであろう物質が、細胞の光の高利用能に依存する濃度で生産される場合に、この利点はさらに顕著である。例えば、ドナリエラ・バルダイル (Dunaliella bardawill) が図2の装置で成長せしめられたとき、そのような成長は同様に効果的であることが判明し、池中での成長と比較して、優れていることがわかった。

【0032】以下の構成上および操作上のデータは、これらの実験に用いられたものである。

#### 栄養液

栄養液として、以下の表2に列挙された成分を含む溶液が用いられた。溶液のpHは7-8である。

#### 【0033】

【表2】

表 2

成 分	栄養液中の重量 (g / l)
NaCl**	150 - 250
NaHCO <sub>3</sub>	0.420
KNO <sub>3</sub>	0.03 - 0.09
CaCl <sub>2</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0.030
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.272
MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	1.240
MnCl <sub>2</sub> x 4H <sub>2</sub> O	0.400 x 10 <sup>-3</sup>
CuCl <sub>2</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0.040 x 10 <sup>-3</sup>
ZnCl <sub>2</sub>	0.040 x 10 <sup>-3</sup>
CoCl <sub>2</sub> x 6H <sub>2</sub> O	0.015 x 10 <sup>-3</sup>
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.600 x 10 <sup>-3</sup>
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> x 4H <sub>2</sub> O	0.370 x 10 <sup>-3</sup>

-----

\*\* Dissolved in tap water.

#### 【0034】成長装置

使用された装置は図2に示されたものであり、各々のセルの高さは200cm (total) 及び170cm (full)、各セルの周囲長さは36cm、各セル当たりの総量は約18リットルである。4列(すなわち図2に示された4基の装置)の配列が採用され、1列当たり30個のセルを含み、長さは4mとなり、総容量は540リットルとなり、装置全体としては総量2160リットルとなる。各々の列間の距離は、2mであり、装置全体が占める総面積は27.2平方メートルである。

#### 【0035】成長の開始

セルには、パイプ10(図2)を介して、1ml当たり3 × 10<sup>5</sup> 細胞密度のD. パルダイルを含有する栄養液が充填された。その溶液中のβ-カロチンの濃度は8.6 μg/ml、クロロフィルの濃度は1.0 μg/mlであった。

#### 回収

クロロフィルに対するβ-カロチンの濃度比が8以上であるという条件で、夏期には溶液中のβ-カロチンの測定濃度が40-60 μg/mlに達し、また、冬期には

その値が30-40 μg/mlに達したときに、回収が行われた。培養液1ml当たりの細胞数は、夏期は1.5-2 × 10<sup>6</sup>、冬期は1-1.5 × 10<sup>6</sup>であった。

【0036】回収は、パイプ9(図2)を介して溶液の50%を円錐形タンクに取り出し、これを沈澱せしめることにより行われる。約12-24時間後に沈澱は完了し、タンクからの上部フラクションはパイプ9を介して再びセルに戻される。各セルに新鮮な栄養液を補充した。各セルから沈澱せしめられたバイオマスはセルの総体積の約3%を占めた。

#### 【0037】性能

試験装置の性能は生産せしめられたβ-カロチン量によって決定された。冬期と夏期に、それぞれ異なった二つの実験が行われた。

#### 夏期の生産

生産試験は、1991年4月30日から1991年6月11日(42日間)の期間に行われた。試験結果は、下記の表3に示されている。

#### 【0038】

【表3】

表 3

回収日 (1991)	培養物中の $\beta$ -カロチンの 濃度 (mg/ml)	回収された $\beta$ -カロチン量 (mg/l)
5月11日	81	40.5
5月20日	53	26.5
5月26日	46	23.0
5月30日	42	21.0
6月2日	41	20.5
6月6日	40	20.0
6月9日	41	20.5
6月11日	30	15.0

【0039】この実験で、総量403.92 gの $\beta$ -カロチンが生産された。昼間の培養液の温度は、28-32℃であった（スプリングラによる冷却で維持された）。当該エリアにおける太陽光線の強度は、2,000-2,500  $\mu\text{E}/(\text{m}^2 \times \text{sec})$  であった。9シス：全トランス異性体比は、60：40であった。

## \* 冬の生産

生産試験は、1991年10月20日から1991年12月8日（50日間）の期間に行われた。実験結果は、下記の表4に示されている。

【0040】

\* 表4】

表 4

回収日 (1991)	培養物中の $\beta$ -カロチンの 濃度 (mg/ml)	回収された $\beta$ -カロチン量 (mg/l)
10月26日	32	16
11月3日	36	18
11月7日	30	15
11月11日	32	16
11月17日	36	18
11月24日	37	18.5
11月28日	27	13.5
12月8日	36	18

【0041】この実験で、総量287.28 gの $\beta$ -カロチンが生産された。培養液の温度は、午前8時の約5℃から午後4時の約20℃の間を変動した。当該エリアにおける太陽光線の強度は、100-700  $\mu\text{E}/(\text{m}^2 \times \text{sec})$  であった。9シス：全トランス異性体比は、75：25であった。上記は実例を示すために行われたものであり、本発明を限定するためではない。本発明は多種類の微生物の成長に応用することができ、特定のバイオマスに限定して用いられるものではない。さらに、本発明の範囲を逸脱しない限りで、多くの異なった構成、セルやフレームの形状、構成材料等を提供することが可能である。

## 【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明の一実施例による装置を示したものである。

【図2】 本発明の他の好ましい実施例による装置を示したものである。

【図3】 池中で成長せしめられたクロレラ・エマーソニ（*Chlorella emersonii*）の成長と、本発明によるその成長と、に関する細胞数の比較を示したものである。

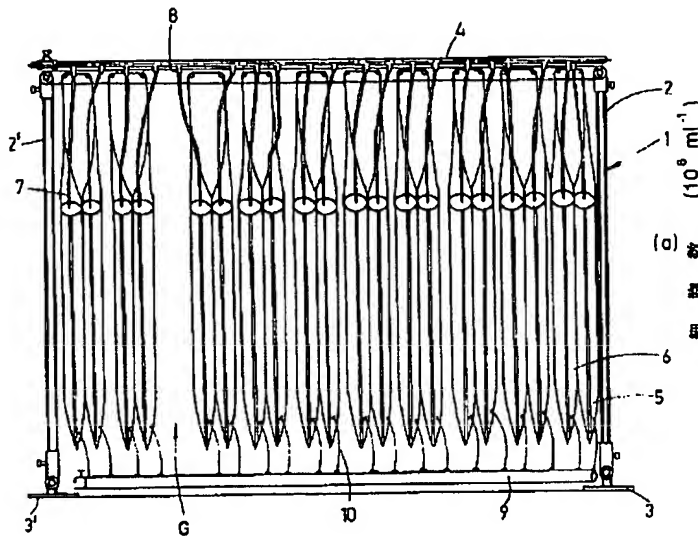
【図4】 池中と、本発明の装置とに関して、クロレラのバイオマスの比較を示したものである。

【図5】 池中及び本発明の装置におけるカンタキサンチン（canthaxanthin）の生産量を示したものである。

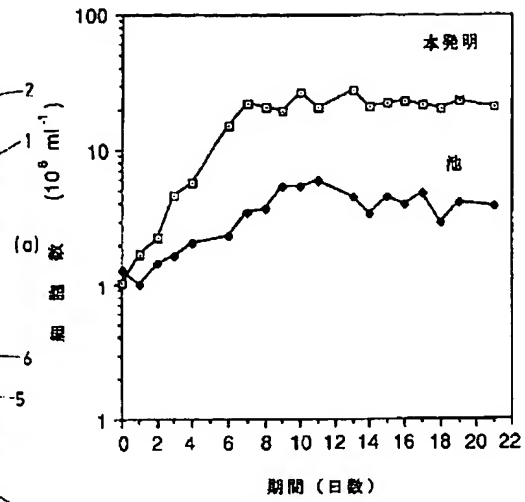


【図6】 池中と、本発明の装置とに関して、クロロフィルの生産量の比較を示したものである。

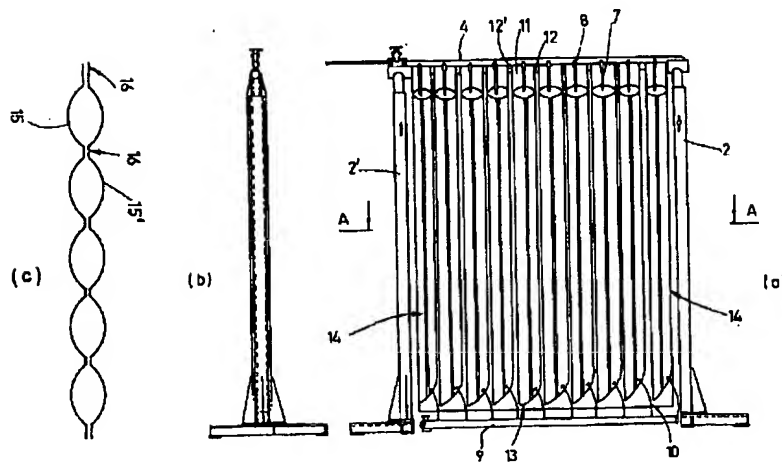
【図1】



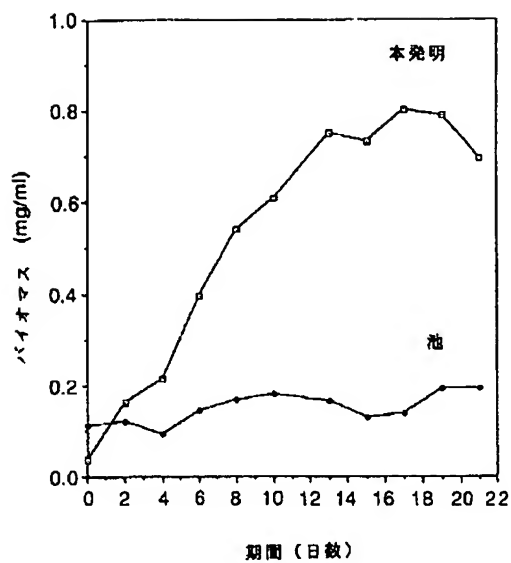
【図3】



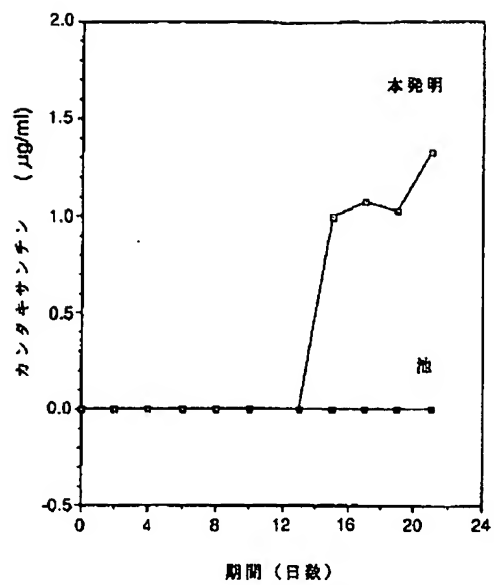
【図2】



【図4】



【図5】



【図6】

